Die Wirkung von Diäthyl-p-nitrophenyl-monothiophosphat (E605) und Nikotin auf den optischen Apparat der Insekten

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Elisabeth Hoffmann

Tag der mündl. Prüfung:
17. Februar 1956

Würzburg 1956

Referent: Prof. Dr. H. Autrum

Über die Wirkungsweise von E 605 auf Wirbeltiere liegen zahlreiche Untersuchungen vor: Dubois, Kenneth, Coon (1952), Enders, Ruf (1952) Cholinesterasehemmung; Erdmann und Duensing (1954), Velbinger (1949) Nachweis gesteigerter Aktivität am Encephalogramm, Erdmann und Schäfer (1954) Synapsenblockierung durch Cholinesterasehemmung. Zum gleichen Ergebnis einer Cholinesterasehemmung kamen auch Wirth (1953) und Stegwee (1952). Bei Insekten nehmen Dubois, Kenneth, Doull, Salerno, Coon (1949) und Stegwee (zit. n. Ber. Biol. 82, 1953) ebenfalls Cholinesterasehemmung an. Befunde von Krupp, Fritsch (1952) und Fritsch (1952) sprechen für einen zentralen Angriffspunkt von E 605 an der Bauchganglienkette von Dytiscus. Histologische Untersuchungen von Lüers, Köpf, Lüers (1953) stellten Veränderungen der Nervenzellen des Thorakal- und Cerebralganglions fest. Ein zentraler Angriffspunkt für E 605 wird von ihnen noch nicht als gesichert angenommen: Die Veränderungen können auch auf Erschöpfungserscheinungen als Folge der Erregungen im peripheren Bereich zurückgeführt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, den Angriffspunkt und die Wirkungsweise von E 605 zu ermitteln. Die Untersuchungen wurden am optischen Apparat von Calliphora erythrocephala und Dixippus morosus durchgeführt, nachdem durch die Arbeiten von Autrum (1950) und Autrum und Gallwitz (1951) über die verschiedenen Formen der Belichtungspotentiale bei Insekten die Zuordnung einzelner Komponenten des ERG zu morphologischen Strukturen des optischen Apparates möglich war. Zur Stützung der Ergebnisse nach Vergiftung mit E 605 wurden Parallelversuche mit Nikotin und Pikrotoxin durchgeführt.

Die elektrophysiologischen Untersuchungen brachten folgende Ergebnisse:

1. E 605

a) Calliphora erythrocephala. Einige Minuten nach Injektion von E 605 (96,2%, 1 mm^3) in die Retina zeigte sich als erste sichtbare Veränderung des Belichtungspotentiales eine Verkleinerung der Potentialhöhe auf $^1/_3$ des Anfangswertes, ohne Abweichung von der normalen diphasischen Potentialform. Der anschließende Beginn einer Formveränderung zeigte sich in einer dem positiven Ein-Effekt vorausgehenden negativen Vorzacke. Diese nahm mit der Einwirkdauer des Giftes an Größe zu. Gleichzeitig verlor der

schnelle positive Ein-Effekt ständig an Höhe; sein Fußpunkt wanderte auf der negativen Vorzacke immer weiter, bis schließlich der restliche positive Ein-Effekt nur noch der negativen Welle aufgesetzt zu sein schien. In Zusammenhang damit trat ein beträchtliches Zwischenpotential auf. Der Aus-Effekt des normalen diphasischen Belichtungspotentiales verkleinerte sich nach Vergiftung gleichsinnig mit dem Ein-Effekt ständig, und schließlich trat bei Ende des Lichtreizes statt eines negativen Aus-Effektes ein positives Nachpotential auf. Diese stark veränderte Form des gesamten Retinogrammes blieb alsdann erhalten.

Die normale Verschmelzungsfrequenz von 250—300 Lichtreizen/sec. erniedrigte sich nach Ausbildung des Vergiftungspotentiales auf 170—200 Lichtreize/sec. Die Latenzzeit, d. h. die Zeit vom Beginn des Reizes bis zum Eintritt der ersten negativen Abweichung vom Ruhepotential, verkürzte sich bedeutend.

Es wurden Versuche mit intakten Fliegen durchgeführt. Diesen wurde nach Ableitung des Normalpotentiales ein mit E 605 getränktes Fließpapier unter die Tarsen geschoben. Das normale Retinogramm veränderte sich daraufhin nicht, obwohl die Tiere alle typischen Vergiftungserscheinungen zeigten.

b) Dixippus morosus. Nach Applikation von E 605 veränderte sich die Form des monophasischen Retinogrammes: Die Steilheit des negativen Anstiegs nahm ab, das Potential wurde flacher und kleiner. Die Verschmelzungsfrequenz verringerte sich von 25—40 Lichtreizen/sec. auf 8—30 Lichtreize/sec. Die Latenzzeit nahm von durchschnittlich 32 msec. auf durchschnittlich 51 msec. zu.

2. Nikotin

a) Calliphora erythrocephala. Injektion von Nikotin ($1{,}6\times10^{-5}$molar, 1 mm^3) rief die gleichen Veränderungen hervor wie E 605: Umkehr der diphasischen Potentialform, Verminderung der Verschmelzungsfrequenz und Verkürzung der Latenzzeit.

b) Dixippus morosus. Da es sich bei dem monophasischen Retinogramm um ein reines Sinneszellenpotential handelt, veränderte sich, wie zu erwarten, nach Nikotin-Injektion ($1{,}6\times10^{-5}$molar) weder die Potentialform noch die Verschmelzungsfrequenz oder die Latenzzeit. Selbst eine Konzentration von $1{,}6\times10^{-4}$molar blieb wirkungslos.

3. Pikrotoxin

a) Calliphora erythrocephala. Die Injektion von Pikrotoxin (6×10^{-5} molar) hatte die gleichen Veränderungen des Belichtungspotentiales wie E 605 zur Folge.

b) Dixippus morosus. Es trat die gleiche Art der Veränderung des Retinogrammes auf, wie nach Injektion von E 605.

Die starke Ausprägung der negativen Anteile des Belichtungspotentiales von Calliphora erythrocephala nach Injektion von E 605, wie sie zunächst in Form der Vorzacke, des Zwischenpotentiales und schließlich in der rein negativen Antwort des Potentiales auf Belichtung in Erscheinung tritt, kann entweder auf einer Wirkung auf den positiven Anteil des Retinogrammes (Hemmung) oder auf einer unmittelbaren Wirkung auf die negative Komponente des Belichtungspotentiales beruhen; dadurch wird dann indirekt die positive Komponente beeinflußt. Für eine direkte Wirkung des E 605 auf die Sinneszellen der Retina spricht die Veränderung des monophasischen Retinogramms von Dixippus, das der negativen Komponente des diphasischen Belichtungspotentiales vergleichbar ist. E 605 wirkt demnach unmittelbar auf die Sinneszellen. Während aber bei Dixippus durch E 605 die negative Kompenente verzögert und verkleinert wird, tritt sie bei Calliphora mit zunehmender Giftwirkung immer deutlicher hervor. Die Aufklärung dieser scheinbar gegensinnigen Wirkung liefert der Einfluß von Nikotin auf die Retina von Calliphora und Dixippus. Nikotin verändert als reines Synapsengift das Sinneszellenpotential von Dixippus nicht. E 605 und Nikotin greifen also an verschiedenen Punkten an: E 605 an den Sinneszellen der Retina, Nikotin an den synaptischen Überleitungen im Ganglion opticum I. Die verschiedenen Angriffspunkte lassen dennoch das auftretende Vergiftungspotential gleich erscheinen: Werden durch Nikotin die Überleitungsvorgänge im Ganglion opticum I gehemmt und schließlich blockiert, so kann die positive Komponente nicht mehr voll ausgebildet werden; mit fortschreitender Hemmung wird ihre Entstehung völlig unterbunden. Hierbei ist wesentlich, daß das negative Sinneszellenpotential, davon unbeeinflußt, in normaler Größe und Form gebildet wird, die Blockierung also einzig die synaptischen Überleitungen betrifft und somit nur die Wirkung des Generatorpotentiales unterbindet. Tritt dagegen nach Injektion von E 605 eine Hemmung der Sinneszellen ein, so verliert das retinale Generatorpotential an Steilheit des negativen Anstiegs. Es ist denkbar, daß die vom Generatorpotential abhängige ganlionäre Komponente infolgedessen verzögert ausgebildet wird, so daß die negative Komponente, nicht mehr von der positiven Komponente verdeckt, als Vorzacke sichtbar wird. Der positive Ein-Effekt verschiebt sich mit fortschreitender Hemmung des Retinapotentiales immer weiter auf dem negativen Ast des Retinogramms, um schließlich ganz auszubleiben, weil das Generatorpotential nicht mehr ausreicht, um ihn auszulösen. Nur in der Entstehung unterscheiden sich beide Vergiftungspotentiale: Nach Ver-

giftung mit E 605 setzt das negative Generatorpotential weniger steil ein, infolgedessen wird das abhängige (positive) Potential der optischen Ganglien kleiner. Nach Vergiftung mit Nikotin bleibt das negative Generatorpotential in normaler Größe und Steilheit erhalten, der synaptische Übertragungsmechanismus wird jedoch geschädigt, und das (positive) Potential der optischen Ganglien wird ebenfalls kleiner. In einem wesentlichen Punkt müssen sich die Vergiftungspotentiale nach E 605 bzw. Nikotin unterscheiden: in der Steilheit und Größe des restlichen negativen Potentiales. Diese Hypothese wird gestützt durch die Messung der Anstiegsgeschwindigkeit des negativen Restpotentiales von Calliphora nach Vergiftung mit E 605 bzw. Nikotin. Der mittlere Potentialanstieg beträgt nach E 605-Vergiftung: 0,6; 0,3; 0,82 und 0,4 relative Einheiten der Potentialhöhe/Zeiteinheit, nach Nikotin: 1,07; 0,97; 1,52 und 0,72 relative Einheiten der Potentialhöhe/Zeiteinheit ($P = 0{,}07$; t-Test nach Pätau). Diese Werte reichen allerdings zu einer guten Sicherung der Verschiedenheit der beiden Anstiegsgeschwindigkeiten nicht aus.

Zusammenfassung

Die Einwirkung von E 605 (Diäthyl-p-nitrophenyl-monothiophosphat) und Nikotin auf den optischen Apparat der Insekten verursacht charakteristische Veränderungen der normalen Retinogramme von Calliphora erythrocephala und Dixippus morosus. Die Analyse der Vergiftungspotentiale ergab: E 605 hemmt die Ausbildung des Retinapotentiales in den Sinneszellen, Nikotin blockiert die synaptischen Überleitungen im Ganglion opticum I.

Literatur

Autrum. Zeitschrift f. vergl. Physiol. 32 (1950).

Autrum, Gallwitz. Zeitschrift f. vergl. Physiol. 33 (1951).

Dubois, Kenneth, Coon. Archiv of Industr. 6 (1952).

Duensing, Erdmann. Archiv exp. Path. und Pharm. 223 (1954).

Enders, Ruf. Archiv intern. Pharmacodyn. 90 (1952).

Erdmann, Schäfer. Archiv exp. Path. und Pharm. 223 (1954).

Fritsch. Biolog. Zentralblatt 71 (1952).

Fritsch, Krupp. Archiv exp. Path. und Pharm. 214 (1952).

Kenneth, Dubois, Doull, Salerno, Coon. Journ. of Pharm and exp. Therap. Vol 95 (1949).

Lüers, Köpf, Lüers. Biolog. Zentralblatt 72 (1953).

Stegwee. Biochem. et Biophys. Acta 8 (1952). (Zit. n. Berichte d. Biologie 82 (1953).

Velbinger. Pharmazie 4 (1949).

Wirth. Archiv exp. Pharm. 217 (1953).